LA MICROPHOTOGRAPHIE.



28112. — PARIS, IMPRIMERIE GAUTHIER-VILLARS,
55, quai des Grands-Augustins.

ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR DE LA PHOTOGRAPHIE.

(CONFÉRENCES DE LA SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE PHOTOGRAPHIE.)

LA MICROPHOTOGRAPHIE,

PAR

F. MONPILLARD,

Membre de la Société française de Photographie.



PARIS,

GAUTHIER-VILLARS, IMPRIMEUR-LIBRAIRE,

ÉDITEUR DE LA BIBLIOTHÈQUE PHOTOGRAPHIQUE,

55, Quai des Grands-Augustins.

1899

LA

MICROPHOTOGRAPHIE.

But. — La Microphotographie a pour but d'enregistrer par les procédés photographiques les images des objets que nous sommes journellement amenés à observer à l'oculaire du microscope.

Historique. — Cet enregistrement des images par une méthode évitant l'intervention du dessinateur, a préoccupé les savants dès que les perfectionnements apportés au microscope leur permirent, en pénétrant plus avant les mystères du monde invisible à l'œil nu, de donner à leurs études un caractère plus scientifique.

Lorsque nous remontons à l'époque où des premiers essais furent tentés dans cette voie, nous nous trouvons amenés à considérer la Microphotographie comme, en quelque sorte, la fille aînée de la Photographie elle-même.

Dès 1802, en effet, Humphry Davy reprenant les expériences de Wedgwood tenta d'obtenir des images d'objets très petits en plaçant près des lentilles du microscope solaire une feuille de papier enduite de chlorure ou imprégnée de nitrate

d'argent ([1]), substances venant d'être reconnues comme propres à pouvoir fixer les images de la chambre obscure.

Davy obtenait ainsi des images; malheureusement les agents fixateurs étant alors inconnus, ces épreuves ne pouvaient se conserver et surtout servir à des études ultérieures, la lumière qui les avait créées venant elle-même les détruire par la suite.

Ces premiers essais en restèrent là.

Il nous faut arriver jusqu'en 1840 pour reprendre le fil de l'histoire de la Microphotographie.

A cette époque, l'optique microscopique avait fait des progrès considérables; non seulement Charles et Vincent Chevalier avaient réussi à appliquer l'achromatisme aux lentilles des microscopes, mais ils étaient parvenus à réaliser des combinaisons puissantes permettant de reculer les limites des investigations microscopiques.

Certaines structures révélées avec ces nouveaux objectifs étaient d'une telle délicatesse que les crayons des dessinateurs, les burins des plus habiles graveurs ne pouvaient parvenir à en reproduire l'aspect dans tous leurs détails et avec la plus scrupuleuse exactitude.

L'emploi de la chambre claire inventée en 1809 par Wollaston, puis perfectionnée et appliquée en 1813 au microscope par Amici, facilitait, il est vrai, considérablement le travail du dessinateur en lui permettant de calquer en quelque sorte les contours des objets observés; mais, lorsqu'il s'agissait de reproduire de fins détails de structure, il fallait recourir à l'interprétation.

Une méthode iconographique absolument précise et supprimant la main de l'homme s'imposait donc comme étant seule capable de satisfaire aux conditions que l'on doit exiger d'un procédé de reproduction réellement scientifique.

Aussi, comprendrons-nous avec quel enthousiasme fut accueillie par le monde savant la divulgation du procédé de Daguerre.

([1]) Rapport d'Arago sur le Daguerréotype; 19 août 1839.

La description de ce procédé fut faite par Arago à la séance de l'Académie des Sciences le 19 août 1839.

En janvier 1840, Donné, alors professeur au Collège de France, présentait à cette même Académie une série d'épreuves daguerriennes obtenues directement au microscope par son préparateur qui n'était autre que Foucault.

Quelques mois, nous oserions presque dire quelques semaines, avaient suffi à Foucault pour se rendre assez maître du nouveau procédé, pour transformer un microscope universel de Chevalier en un microscope-daguerréotype, et obtenir des épreuves d'une perfection telle que, en les présentant à l'Académie des Sciences, Donné n'hésitait pas à annoncer la publication prochaine d'un Atlas de Microscopie dont toutes les planches seraient gravées d'après les images daguerriennes.

Cette promesse fut réalisée : en 1845 paraissait cet Atlas ne comprenant pas moins de quatre-vingts figures représentant l'anatomie microscopique et la physiologie des fluides de l'économie, des levures de bière, fécule, pollen, etc. C'est là la première application de la Microphotographie à l'illustration des ouvrages scientifiques.

L'exemple de Foucault fut bientôt suivi en France, notamment par Charles et Vincent Chevalier, à l'étranger par le Dr J. Berrès qui exécuta à Vienne, en 1846, une série d'épreuves daguerriennes au microscope.

Définitivement considérée comme une véritable méthode de reproduction scientifique, la Microphotographie profita des découvertes qui succédèrent à celle du daguerréotype.

En 1847, Carpenter présentait à la Société Royale de Londres des épreuves microphotographiques obtenues sur papier par le procédé Talbot, première application de l'emploi des agents révélateurs.

Dès qu'apparut le procédé au collodion (1851), il fut mis immédiatement en pratique par les micrographes, notamment par Bertsch (1851), Brébisson, Moitessier, Nachet, etc., en France.

Parmi ces essais, citons notamment ceux que M. Nachet entreprit en 1856 en collaboration avec Duboscq.

Sur la demande de M. Milne-Edwards, ces messieurs exécu-

tèrent au microscope, en éclairant leurs préparations au moyen d'une lampe à arc, une série de clichés sur les globules du sang, ainsi que quelques photographies réellement remarquables représentant des algues marines, des diatomées, des tissus divers.

En 1866 paraissait le premier Ouvrage de Microphotographie, *La Photographie appliquée aux recherches micrographiques* (1), par Moitessier, et dans lequel se trouvent décrits avec beaucoup de détails les instruments et procédés alors en usage à cette époque.

Dans cet Ouvrage, l'auteur insistait sur un point qui présentait alors une importance capitale : *la correction du foyer chimique des objectifs*.

Des objectifs parfaits pour l'observation donnaient des images photographiques sans vigueur et sans netteté.

Foyer chimique. — Ce grave défaut résultait de ce fait que, par suite des verres dont disposaient alors les opticiens, ils ne pouvaient achromatiser leurs objectifs que pour deux rayons colorés choisis dans la partie la plus lumineuse du spectre : le jaune et le vert jaune ; or, si ces couleurs impressionnent vivement la rétine humaine, nous savons qu'elles sont pour ainsi dire sans action sur le bromure d'argent, alors que, sur celui-ci, ce sont les radiations bleues et violettes qui agissent avec le plus de rapidité et d'énergie.

L'image formée par les radiations jaunes et vert jaune constitue l'*image optique*, celle formée par les radiations bleues et violettes constitue l'*image chimique* ou *photographique*, celle qui sera utilisée par la couche sensible.

Or cette dernière image, résultant de rayons les moins réfrangibles du spectre, viendra se former dans un plan situé en avant de celui dans lequel viendra se peindre l'image optique et sur lequel la mise au point sera effectuée.

Il est alors facile de comprendre que de cette non-coïncidence entre l'image optique et l'image chimique ou photo-

---

(1) J.-B. Baillière et fils, éditeurs.

graphique, il résultera fatalement l'obtention de négatifs dont la parfaite netteté laissera à désirer.

Foucault, Bertsch, surtout l'abbé comte de Castracane et Moitessier réussirent à éviter les inconvénients résultant de cette non-coïncidence des foyers optique et chimique en faisant travailler l'objectif dans une lumière dite *monochromatique,* c'est-à-dire dans une lumière colorée correspondant à une région donnée du spectre.

La mise au point et l'impression photographique étant toutes deux effectuées dans une lumière homogène, les plans des deux images optique et chimique coïncident et la netteté de la seconde se trouve être identique à celle de la première.

C'était là un notable progrès, car il permettait d'utiliser les objectifs servant aux observations pour obtenir d'excellentes microphotographies.

Étant donné que les couches sensibles alors employées étaient surtout impressionnées par les radiations bleues et violettes, Moitessier, pour réaliser cette lumière monochromatique, recommandait de faire passer le faisceau éclairant la préparation à photographier au travers d'une cuve de glace à faces parallèles contenant une solution de sulfate de cuivre ammoniacal ou de la liqueur de Barreswil. Lorsque l'objet observé était incolore ou faiblement coloré, les résultats obtenus étaient non seulement satisfaisants, mais, comme nous le verrons par la suite, l'emploi de cette lumière bleue, riche en rayons de faible longueur d'ondes, plaçait l'opérateur dans d'excellentes conditions lorsqu'il s'agissait de reproduire photographiquement des structures très délicates.

Il n'en était pas de même lorsque la préparation à photographier présentait des colorations un peu intenses; dans ces conditions, si l'emploi de l'écran bleu permettait d'obtenir des images nettes, aux contours bien définis, par contre, favorisant l'impression des radiations bleues et violettes pour lesquelles le bromure d'argent est particulièrement impressionnable, retardant au contraire ou absorbant d'une façon complète les radiations vertes, jaunes, orangées ou rouges qui n'ont que peu ou point d'action sur le bromure d'argent, l'emploi de

l'écran bleu venait en quelque sorte exagérer les contrastes résultant de la différence d'impressionnabilité aux différentes radiations colorées du spectre existant entre la rétine humaine et les couches sensibles.

L'épreuve photographique d'un tissu coloré en bleu se détachant, à la vision oculaire, vigoureusement sur le fond, ne nous montrait qu'une pâle grisaille aux détails mal accusés, noyés dans un excès de lumière.

Celle d'un organe coloré en jaune ou en rouge montrant à l'examen direct et par transparence de nombreux et fins détails de structure, nous donnait une silhouette se détachant, il est vrai, nettement et vigoureusement sur le fond, mais d'apparence absolument opaque, sans qu'aucun de ces détails de structure fût visible.

Orthochromatisme. — Dès 1873, les recherches de M. le Professeur Vogel démontrèrent la possibilité de rendre, par l'emploi de teintures spéciales, le bromure d'argent sensible aux radiations vertes et jaunes, et de reproduire ces couleurs avec leurs valeurs exactes; deux années plus tard, les mêmes résultats étaient obtenus par le même savant pour les rayons orangés et rouges.

Les procédés orthochromatiques étaient créés et devaient définitivement entrer dans la pratique courante à la suite des travaux de Becquerel en France, Ives à Philadelphie, Obernetter, Scolick en Allemagne.

Ce progrès apporté dans les procédés photographiques, permettant de reproduire avec leurs valeurs exactes les objets colorés quelles que soient la nuance et l'intensité de la coloration, présentait une importance capitale pour la Microphotographie, si nous considérons que le développement de certaines sciences telles que l'Embryologie, l'Histologie, la Bactériologie, etc., est dû, pour la majeure partie, à l'emploi des réactifs colorants.

Du jour où nous avons eu entre les mains soit des substances nous permettant de modifier à notre gré la sensibilité du bromure d'argent pour telle ou telle région du spectre, soit des plaques toutes préparées telles que les plaques ortho-

chromatiques de MM. Lumière frères susceptibles d'être impressionnées soit par les radiations vertes et jaunes, soit par les radiations jaune orangé et rouges, la Microphotographie entrait dans une voie nouvelle.

Entreprendre l'étude détaillée des procédés orthochromatiques nous entraînerait beaucoup trop loin; nous ferons surtout remarquer que par l'emploi de ces procédés nous obtenons aujourd'hui, non seulement des microphotographies absolument satisfaisantes au point de vue de la netteté et de la précision avec lesquelles l'aspect des préparations soumises à l'étude se trouve reproduit, mais encore l'emploi de plaques orthochromatiques, combiné à celui des écrans colorés, nous permet de réaliser directement, au microscope, des sélections par la méthode que nous devons à nos compatriotes MM. Cros et Ducos de Hauron et au moyen desquelles nous reproduirons par voie de synthèse pigmentaire les colorations mêmes observées dans la préparation soumise à l'étude.

Bien que rendu sensible aux radiations vertes, jaunes ou rouges, le bromure d'argent conserve toujours la faculté de s'impressionner bien plus rapidement sous l'action des radiations bleues ou violettes.

Il en résulte que, dans la pratique des procédés orthochromatiques, il y a en général avantage à modérer ou arrêter suivant les cas l'action de ces radiations très actiniques de façon à permettre aux autres d'impressionner la couche sensible.

Nous nous trouvons donc conduits, pour modérer ou arrêter ces radiations bleues ou violettes, à recourir à l'emploi d'un écran vert, jaune ou jaune orangé suivant le résultat que nous désirons obtenir.

Si la substitution de ces écrans à l'écran bleu autrefois employé par Moitessier nous place dans de meilleures conditions au point de vue de la reproduction des valeurs exactes des objets colorés, elle est éminemment favorable également au point de vue de la correction du foyer chimique des objectifs.

En effet, nous avons fait remarquer que dans les objectifs de microscope destinés à l'observation, l'achromatisme est réalisé pour les rayons jaunes et vert jaune.

Écran jaune. — Si par l'emploi d'un écran coloré, de teinte convenablement choisie, nous faisons travailler notre objectif dans une lumière monochromatique, jaune par exemple, il est bien évident que nous nous plaçons dans les meilleures conditions possibles au point de vue optique. L'image photographique enregistrée sur une plaque sensible aux radiations jaunes devra présenter la même netteté que celle qui vient se peindre sur notre rétine.

C'est en effet ce que l'expérience vient confirmer. Lorsque nous sommes en possession d'objectifs possédant un foyer chimique, toutes les fois que la coloration le permettra, l'emploi de l'écran jaune présentera de sérieux avantages.

Cet écran jaune peut être constitué par une solution saturée d'acide picrique ou une solution de chromate neutre de potasse à 6 ou 8 pour 100, suivant l'épaisseur de la couche liquide.

Ajoutons enfin que l'image vue en lumière jaune étant très lumineuse, les opérations toujours si délicates de mise au point se trouvent être considérablement facilitées.

Cependant, en raison des exigences actuelles de la Microphotographie, il est aujourd'hui indispensable de pouvoir disposer d'objectifs de microscope dépourvus de foyer chimique et capables de donner, aussi bien en lumière blanche qu'en lumière colorée, des images photographiques irréprochables.

Objectifs. — Cette lacune est heureusement comblée. Les progrès réalisés depuis plusieurs années dans la fabrication des verres d'optique ont permis de rendre beaucoup plus parfait l'achromatisme des objectifs. Ceux qui nous sont aujourd'hui livrés par les grands opticiens français et étrangers réunissent toutes les conditions que l'on est en droit de souhaiter.

Nous voulons parler surtout ici des objectifs achromatiques et nous insistons sur ce point, désirant avant tout rester dans le domaine de la pratique.

En effet, l'emploi de ces nouveaux verres, auxquels nous faisons allusion, a amené la maison Zeiss d'abord, puis les autres opticiens d'Europe et d'Amérique, à créer un type spé-

cial d'objectifs désignés sous les noms d'*apochromatiques*, *semi-apochromatiques*, *pantachromatiques*, etc., dans lesquels les aberrations de réfrangibilité et de sphéricité sont corrigées d'une façon aussi parfaite que possible.

L'apparition de ces nouvelles combinaisons fit croire que ces objectifs devaient uniquement et définitivement remplacer les achromatiques pour la Microphotographie.

En pratique, il n'en est rien ; les perfectionnements apportés dans la construction des objectifs achromatiques font que ceux qui nous sont livrés aujourd'hui par les grands opticiens français et étrangers peuvent rivaliser avec les apochromatiques ; nous ajouterons même qu'ils présentent sur ces derniers un avantage très appréciable au point de vue photographique, c'est celui de donner un champ net notablement plus étendu.

Dans tous les cas, ces derniers progrès réalisés dans l'Optique microscopique ont eux-mêmes, pour une large part, contribué à ceux de la Microphotographie.

En dehors de l'absence du foyer chimique, quelles sont les qualités que nous devons rechercher dans les objectifs destinés à la Microphotographie?

1° Le pouvoir définissant : il résulte de la parfaite correction des aberrations, réalisée aujourd'hui d'une façon complète par tous les bons opticiens;

2° Le pouvoir résolvant ou séparateur réside dans la propriété que doit posséder un objectif de séparer ou résoudre optiquement, à un grossissement donné, deux points, deux lignes d'une structure très délicate ;

3° Le pouvoir pénétrant, grâce auquel la mise au point étant effectuée sur un détail situé dans un plan donné de l'objet étudié, les détails se trouvant dans des plans en deçà et en delà de celui-ci par rapport à l'axe de l'objectif seront perçus avec une égale netteté.

Or le pouvoir pénétrant et le pouvoir résolvant d'un objectifs sont liés l'un à l'autre par une relation commune : l'ouverture numérique de cet objectif.

Si la valeur de cet angle augmente, son pouvoir séparateur augmente également alors que sa pénétration diminue

Dans la pratique courante de la Microphotographie, nous devrons surtout rechercher des objectifs dont la valeur de l'ouverture numérique soit suffisante pour obtenir une bonne résolution, mais cependant assez peu élevée pour que ces objectifs possèdent surtout un pouvoir pénétrant maximum.

Ce pouvoir pénétrant des objectifs présente en Microphotographie une importance considérable : en effet, lorsque nous observons une préparation au microscope, par de légers mouvements imprimés au bouton commandant le mouvement lent, nous déplaçons sans cesse l'objectif dans le sens vertical en vue d'avoir une image nette des différents plans de la préparation étudiée; il importe donc peu, pour l'observation directe, que l'objectif dont nous nous servons ne possède pas un pouvoir pénétrant considérable.

En Microphotographie, il n'en est pas ainsi; la mise au point, une fois faite, doit rester invariable pendant la durée de l'impression lumineuse sur la couche sensible.

Si l'objectif est peu pénétrant, il en résulte alors que les détails de structure situés sur le plan mis au foyer seront nettement enregistrés par la plaque photographique; par contre, ceux situés sur des plans en deçà et en delà de celui-ci viendront former des images floues, aux contours mal accusés, nuisant considérablement à la perfection du négatif.

Nous n'insisterons pas sur cette méthode dite des *poses successives* préconisée par certains opérateurs et qui consiste à effectuer, pendant l'exposition de la surface sensible, deux ou trois déplacements de l'objectif correspondant à deux ou trois mises au foyer déterminées d'avance : un semblable procédé, de l'aveu même des auteurs, ne peut donner que des images d'une netteté très relative.

En somme, il est préférable, en thèse générale, pour les besoins de la Microphotographie, de recourir à l'emploi d'objectifs dont l'ouverture soit moyenne de façon à présenter un pouvoir pénétrant aussi élevé que possible.

Nous verrons du reste par la suite que, dans des cas particuliers, en faisant travailler nos objectifs dans des conditions

déterminées, nous augmentons dans de notables proportions leur pouvoir résolvant.

Pour la photographie des bactéries dans les tissus, par exemple, nous aurons plutôt avantage à recourir à l'emploi d'objectifs à immersion eau dont l'ouverture numérique est faible, mais dont la pénétration est souvent assez grande pour nous permettre d'enregistrer avec netteté l'image des différents plans de la préparation.

Si nous avons au contraire à photographier une préparation de bactéries en culture, les organismes se présentant alors dans un plan pour ainsi dire unique, nous pourrons avoir recours à un objectif à immersion homogène qui, par suite de sa plus grande ouverture numérique, admet davantage de lumière et permet de réduire le temps de pose dans des proportions notables.

Enfin, avons-nous à résoudre une structure extrêmement délicate, nous n'hésiterons pas alors à recourir à l'emploi d'objectifs à ouverture numérique aussi élevée que possible, et par cela même capables d'enregistrer sur la plaque sensible les détails les plus fins de cette structure.

Oculaires. — En Microphotographie, il y a avantage à supprimer les oculaires servant à l'observation; c'est l'image même fournie par l'objectif qui est enregistrée sur la surface sensible.

Cependant, lorsque dans un tissu, par exemple, un élément se présentant obliquement nous oblige à recourir à l'emploi d'un objectif à foyer assez long et à ouverture numérique assez faible pour que son pouvoir pénétrant permette d'obtenir de cet élément une image nette dans toutes ses parties, il peut arriver que cette image soit de dimension un peu trop réduite pour pouvoir être utilement étudiée à l'œil nu.

Le faisceau lumineux émané de l'objectif étant divergent, nous avons bien la ressource, en éloignant la surface sensible de l'objectif, d'obtenir des images de plus en plus amplifiées au fur et à mesure que la distance augmente.

Ce n'est que dans des limites assez restreintes que nous pouvons opérer ainsi : en effet, au fur et à mesure que nous

augmentons la dimension de l'image en éloignant la surface sensible de l'objectif, nous sommes obligés de rapprocher celui-ci de l'objet.

Diminuant le foyer, nous perdons en pénétration, de sorte que ce que nous gagnons d'un côté, nous le perdons de l'autre.

Nous devons en outre considérer que les objectifs de microscope sont corrigés pour donner des images présentant leur maximum de netteté à une distance de 160^{mm}, distance qui, il est vrai, peut être décuplée avec les objectifs actuels. Cependant nous ne devons pas oublier que, plus nous augmentons le tirage de la chambre, plus nous nous éloignons des meilleures conditions de définition de l'image photographique.

Dès 1844, Foucault se servait « d'une lentille achromatique concave, située à une petite distance et en arrière de celles formant l'objectif et qui servait, en augmentant la divergence des faisceaux lumineux, à accroître le grossissement et à remédier aux aberrations [1] ». Cette idée fut reprise par la suite en Amérique par le Dr Woodward.

Depuis quelques années, on s'est appliqué à reprendre l'image donnée par l'objectif par un système optique, là où elle présente son maximum de netteté, et la projeter, agrandie, sur la surface sensible.

C'est ce que réalisent aujourd'hui les oculaires dits *à projection*.

Ces oculaires se composent d'une lentille collectrice associée à un système projecteur parfaitement corrigé pour le foyer chimique, les aberrations de sphéricité et de réfrangibilité.

Suivant leur composition optique, pour un même tirage de la chambre noire, ces oculaires à projection peuvent agrandir de deux à quatre fois l'image fournie par l'objectif; un dispositif spécial permet de régler l'écartement entre la lentille collectrice et le système projecteur, suivant la distance existant entre celui-ci et la surface sensible.

---

(1) DONNÉ, Introduction au *Cours de Microscopie*, p. 17; 1845.

En Microphotographie, lorsque nous nous trouvons en présence de préparations montrant des détails de structure dans des plans différents, l'emploi des oculaires à projection, associés à des objectifs à long foyer et à faible ouverture numérique, présente de réels avantages.

Supposons que nous nous trouvions amenés à photographier un élément se présentant obliquement par rapport au plan observé; l'examen direct nous montre que, pour obtenir une image positive facile à étudier à l'œil nu, il nous faudra recourir à un grossissement de 125 diamètres.

Avec le tirage minimum de la chambre noire, pour obtenir cette amplification avec un objectif seul, il nous faudra recourir à un objectif dont l'ouverture numérique est de 0,60, mais dont le pouvoir pénétrant exprimé en millièmes de millimètre n'est que de 4,4 : en raison de la position oblique de cet élément, ce pouvoir pénétrant est notoirement insuffisant et, dans ces conditions, nous ne saurions espérer obtenir une image complètement satisfaisante au point de vue de la netteté.

Si, au contraire, nous avons à notre disposition un oculaire à projection amplifiant par exemple deux fois et demie l'image donnée par un objectif et pour un même tirage de la chambre, nous pourrons alors, pour obtenir ce même grossissement de 125 fois, recourir à un objectif plus faible qui, possédant un plus long foyer, aura une ouverture numérique beaucoup plus réduite (0,21), et par cela même un pouvoir pénétrant assez considérable pour enregistrer sur la plaque photographique des détails de structure situés sur des plans correspondant à une épaisseur de 57 millièmes de millimètre. Dans ces conditions, il y a beaucoup de chances pour que nous réussissions à obtenir, avec l'amplification reconnue convenable, une image absolument correcte de l'élément étudié, malgré les conditions défectueuses dans lesquelles il se présentait au point de vue photographique.

Sources de lumière. — Étant donné avec quelle facilité nous pouvons, avec un héliostat, maintenir un faisceau de lumière solaire dans une direction déterminée, si cette lumière

était moins inconstante, surtout dans nos régions, c'est à elle que, sans hésiter, nous devrions donner la préférence pour les travaux de Microphotographie.

Sa puissance nous permet en effet de réduire les temps de pose à leur minimum; sa richesse en rayons de faible longueur d'ondes constitue, comme nous le verrons par la suite, une précieuse ressource, car elle nous permet d'augmenter en quelque sorte le pouvoir résolvant de nos objectifs.

Pour les travaux courants du laboratoire, il nous faut recourir aux sources de lumière artificielle qui, pour la Microphotographie, devront être aussi puissantes et aussi constantes que possible.

Celle de l'arc électrique pourrait, par sa grande intensité lumineuse et sa richesse en radiations bleues et violettes, rendre de grands services en Microphotographie, s'il était facile de maintenir avec une précision parfaite le cratère lumineux au centre optique de l'appareil éclairant le microscope, et ceci, non seulement pendant toute la durée de la pose, mais encore pendant toute la durée du temps nécessité par les opérations préliminaires (recherche du point à photographier, mise au foyer, centrage des éclairages, mise au point de l'image, etc.).

La lampe à incandescence permet plus facilement l'emploi de la lumière électrique pour les travaux de Microphotographie; de nombreux expérimentateurs savent tirer un excellent parti de ce mode d'éclairage; nous citerons notamment les remarquables épreuves obtenues par MM. Osmond et Guillemin en photographiant au microscope, avec des objectifs à immersion, des surfaces métalliques avec des grossissements atteignant jusqu'à 1000 et 1500 diamètres.

M. Trouvé a construit un petit appareil, le photophore, parfaitement combiné pour rendre très pratique l'emploi de la lampe à incandescence pour l'éclairage de l'objet placé sur la platine du microscope.

L'incandescence par le gaz (bec Auer), l'emploi de la lumière du pétrole, surtout lorsque celui-ci est additionné de 2 pour 100 de camphre (Miquel), celui de l'acétylène, conduisent, entre des mains habiles, à d'excellents résultats. Dans

son récent *Traité de Microphotographie*, M. Mathet nous montre par quelques exemples tout le parti qu'il est possible de tirer de cet excellent mode d'éclairage.

Il nous reste à signaler une source lumineuse qui, à notre avis, constitue le mode d'éclairage le plus pratique pour tous les travaux de Microphotographie : nous voulons parler de la lumière oxhydrique.

Étant donnée l'extrême facilité avec laquelle l'oxygène nous est livré aujourd'hui par l'industrie, la lumière oxhydrique, par son intensité et sa constance, se prête merveilleusement au genre de travail dont il est ici question.

Remplaçant le bâton de chaux par une perle de magnésie de dimension aussi réduite que possible, nous obtenons alors une lumière d'une blancheur éblouissante, riche en rayons actiniques et réduite en quelque sorte à un point lumineux, condition éminemment favorable pour l'éclairage des préparations microscopiques.

En juillet 1888, M. le Dr Roux présentait à la Société d'Encouragement une lanterne construite spécialement pour la Microphotographie, dans laquelle une perle de magnésie est portée à l'incandescence par la flamme fournie par un chalumeau vertical annulaire à gaz oxhydrique; la lumière émise par la perle est utilisée par un système optique permettant de diriger sur la préparation microscopique un faisceau lumineux pouvant à volonté être rendu parallèle, convergent ou divergent.

Cet appareil, dont nous nous servons depuis dix années, constitue, à notre avis, l'instrument le plus parfait qui existe jusqu'ici.

Condensateurs. — La majeure partie des objets que nous avons à photographier au microscope étant transparents, en vue de réduire le temps de pose à son minimum, nous aurons presque toujours avantage à concentrer sur l'objet une quantité de lumière aussi forte que possible au moyen d'un système optique appelé *condensateur*.

L'étude des différents types de condensateurs et des conditions qu'ils doivent remplir nous entraînerait beaucoup trop

loin, rappelons simplement qu'en thèse générale l'ouverture numérique du condensateur doit être d'un tiers inférieure à celle de l'objectif avec lequel on opère.

Rappelons également que plus l'angle du cône lumineux éclairant sera aigu, plus nous gagnerons en définition et en pénétration; voulons-nous au contraire utiliser toute la puissance résolvante de notre objectif pour enregistrer les détails d'une fine structure, nous aurons avantage à éclairer notre objet avec un faisceau lumineux d'angle d'ouverture aussi large que possible de façon à utiliser des rayons très obliques; dans ce cas, ce que nous gagnerons en puissance résolvante, nous le perdrons en définition et en pénétration ainsi qu'au point de vue de l'étendue du champ nettement couvert.

Nous ne nous étendrons pas sur les appareils éclaireurs et les dispositifs spéciaux pour la photographie des corps opaques; signalons cependant les progrès qui, dans ces dernières années, ont été faits dans cette voie par l'emploi des éclairages dits *internes*. Grâce à ces appareils aujourd'hui admirablement construits, la photographie des corps opaques et en particulier celle des surfaces métalliques a pris un essor considérable qui n'a pas peu contribué aux derniers progrès de la Métallurgie.

Écrans colorés. — Nous ne voudrions pas terminer ce chapitre de l'éclairage des objets sans dire quelques mots des écrans colorés.

Dès le début de cette conférence, nous avons fait ressortir l'importance résultant de l'emploi de la lumière monochromatique bleue ou jaune au point de vue de la correction du foyer chimique des objectifs.

Lorsqu'il s'agit de reproduire avec tous leurs détails, et avec leurs valeurs exactes, des préparations présentant des colorations diverses, l'emploi des écrans colorés devient le complément indispensable de celui des plaques orthochromatiques.

Nous désirons principalement insister ici sur ce point, c'est que l'emploi de certains écrans colorés en Microphotographie

fait de cette méthode, non seulement un procédé précieux pour l'enregistrement des observations, mais encore la transforme en un puissant moyen d'investigation.

Si nous considérons, en effet, que le bromure d'argent présente un maximum de sensibilité pour les rayons bleus et violets qui, eux, n'impressionnent que faiblement la rétine humaine ;

Si nous considérons en outre que le pouvoir séparateur d'un objectif augmente si, au lieu de le faire travailler en lumière blanche, nous opérons en lumière bleue ou violette, nous nous trouvons en possession d'éléments nous permettant, par la Photographie, d'étendre nos moyens d'investigation et de faire apparaître des détails de structure d'une telle délicatesse que notre œil armé du plus puissant objectif serait incapable de percevoir lui-même.

C'est en effet par l'emploi de la lumière solaire, si riche en rayons réfrangibles, combiné à celui d'écrans bleus et violets, qu'ont été résolus par MM. Nachet, Van Heurk, Woodward, etc., les tests les plus délicats.

C'est à la Photographie que nous devons la découverte des cils des bactéries, par Koch, en 1877, et qui sont aujourd'hui plus faciles à déceler à l'examen direct grâce à l'emploi de procédés spéciaux de coloration.

Appareils. — Les appareils destinés à la Microphotographie sont en principe constitués par un microscope associé à une chambre noire photographique.

Les nombreux modèles qui existent aujourd'hui peuvent se diviser en trois catégories :

1° Les appareils verticaux : le microscope est disposé verticalement au-dessous de la chambre noire dont la partie postérieure peut se déplacer suivant l'axe vertical de façon à permettre d'opérer avec des tirages différents et, avec un même objectif, obtenir des grossissements variables;

2° Les appareils horizontaux, dans lesquels le corps du microscope est horizontal, ainsi que la chambre noire. Cette disposition, qui donne à l'ensemble une très grande stabilité,

permet une grande amplitude dans le déplacement de la partie postérieure de la chambre noire, et de faire varier les grossissements dans de notables proportions.

C'est à ce type que se rattachent les grands appareils (Nachet, Verik, Yvon, Zeiss, etc.);

3° Les appareils coudés, dans lesquels le microscope est vertical et la chambre noire horizontale; un miroir placé à 45° ou un prisme à réflexion totale placé sur le trajet des rayons lumineux émis par l'objectif, renvoie horizontalement l'image donnée par celui-ci sur le verre dépoli de la chambre noire sur lequel s'effectue la mise au point.

Ce type d'appareil, déjà indiqué par Moitessier, puis perfectionné par M. Nachet sur les indications de M. le professeur Aimé Girard, possède le précieux avantage de permettre de photographier des préparations extemporanées dans les liquides, la platine du microscope restant horizontale; la position horizontale de la chambre noire assure une parfaite stabilité de l'appareil.

Rappelons enfin les appareils spéciaux créés par MM. Nachet, Dr Marey, pour la photographie instantanée des êtres vivants et des corpuscules microscopiques en mouvement.

Applications. — Aujourd'hui, par suite des perfectionnements résultant des progrès apportés dans l'Optique, dans la construction des instruments, dans les méthodes photographiques, nous sommes à même de réaliser des épreuves nous donnant souvent avec une fidélité absolue l'illusion de la vision de l'objet lui-même à l'oculaire du microscope.

C'est là un résultat de la première importance. En effet, comme le disait si bien M. Davanne, « l'épreuve photographique, c'est la vérité inscrite par la lumière »; nous ajouterons que l'épreuve microphotographique, c'est le document scientifique par excellence, exempt de toute trace d'interprétation personnelle.

Non seulement ces épreuves, résultant de l'enregistrement de nos observations, viennent, en donnant à celles-ci un caractère de sincérité indiscutable, faciliter considérablement

nos descriptions et leur donner une valeur bien plus grande que si celles-ci étaient faites sur de simples dessins, toujours susceptibles d'être taxés d'interprétation; l'examen de ces épreuves viendra bien souvent faciliter, aider ces observations, et les rendre plus précises.

Chacun sait combien l'étude successive de deux ou plusieurs préparations microscopiques est laborieuse et souvent pénible; la mémoire de l'œil est fugitive; pendant les opérations nécessitées par la recherche du point à observer, l'éclairage, la mise au foyer, le souvenir précis s'efface; de là, bien des causes d'erreurs.

Enregistrons chaque observation par la Photographie et continuons nos études comparatives sur des épreuves placées les unes à côté des autres, ces causes d'erreurs disparaissent en raison de l'extrême facilité avec laquelle nous pouvons procéder à leur examen simultané.

C'est la comparaison d'épreuves microphotographiques qui a donné à l'analyse micrographique des métaux et des alliages toute son importance entre les mains d'habiles praticiens, M. Osmond, M. Guillemin.

Les mesures, qui s'effectuent avec tant de peine lorsqu'il s'agit de détails de structure ou d'organismes extrêmement délicats, sont considérablement facilitées lorsqu'elles sont exécutées sur des épreuves photographiques dont il est aisé de connaître avec une parfaite précision la valeur de l'amplification.

Enfin, il est une dernière application que nous ne saurions passer sous silence : nous voulons parler des services que cette méthode de reproduction peut rendre au point de vue de l'enseignement et de la diffusion des sciences naturelles et médicales par le livre et par la projection.

Nos clichés photographiques, reproduits par l'héliogravure, la photocollographie, la simili-gravure, nous donneront à l'impression aux encres grasses des images plus vraies, plus exactes que les meilleurs dessins.

Si nous mettons à profit les procédés de reproduction indirecte des couleurs, nous obtiendrons, imprimées à milliers d'exemplaires, des planches nous donnant des images des

objets observés, non seulement précises quant aux détails, mais encore exactes par les colorations.

Après avoir fait allusion aux services que peut rendre la Microphotographie au point de vue de l'enseignement par le Livre, nous ne saurions manquer de signaler son application à l'enseignement par la projection.

Nous ne devons pas oublier que cet enseignement par des projections exécutées d'après des clichés obtenus directement au microscope a été inauguré en France par le savant professeur M. Aimé Girard, dans ce même amphithéâtre des Arts et Métiers où sa parole si sympathique a, pendant trop peu d'années, hélas! attiré tant d'auditeurs.

Ici encore, les procédés ne nous manquent pas pour réaliser des positifs sur verre dont l'image projetée sur l'écran nous donnera bien souvent l'illusion de la réalité.

Les procédés au gélatino-bromure et au gélatino-chlorure, le si élégant procédé que MM. Lumière frères nous ont fait connaître dès 1890, enfin celui que les mêmes habiles expérimentateurs ont si bien su mettre en pratique depuis quelques mois, permettent d'obtenir des projections noires, brunes, colorées : monochromes, bichromes, trichromes et polychromes, susceptibles de faciliter considérablement la tâche du conférencier tout en intéressant l'auditoire par la variété des effets réalisés.

En 1845, Donné écrivait : « Nous laisserons la Nature se reproduire elle-même ; nous la fixerons sur une planche daguerrienne, avec tous ses détails et ses nuances infinies ». Son rêve est aujourd'hui réalisé au delà de ses espérances; en effet, ce ne sont plus sur des planches daguerriennes que nous enregistrons nos observations, mais sur des couches sensibles qui nous permettent, par la suite, de diffuser par le livre et par la projection des milliers d'épreuves avec « tous les détails et les nuances infinies » des objets observés.

Tout en nous félicitant du chemin parcouru, ne considérons pas notre tâche comme étant terminée.

Rappelons-nous que, comme la Photographie elle-même, la Microphotographie est née en France.

Perfectionnons sans cesse nos procédés et nos méthodes,

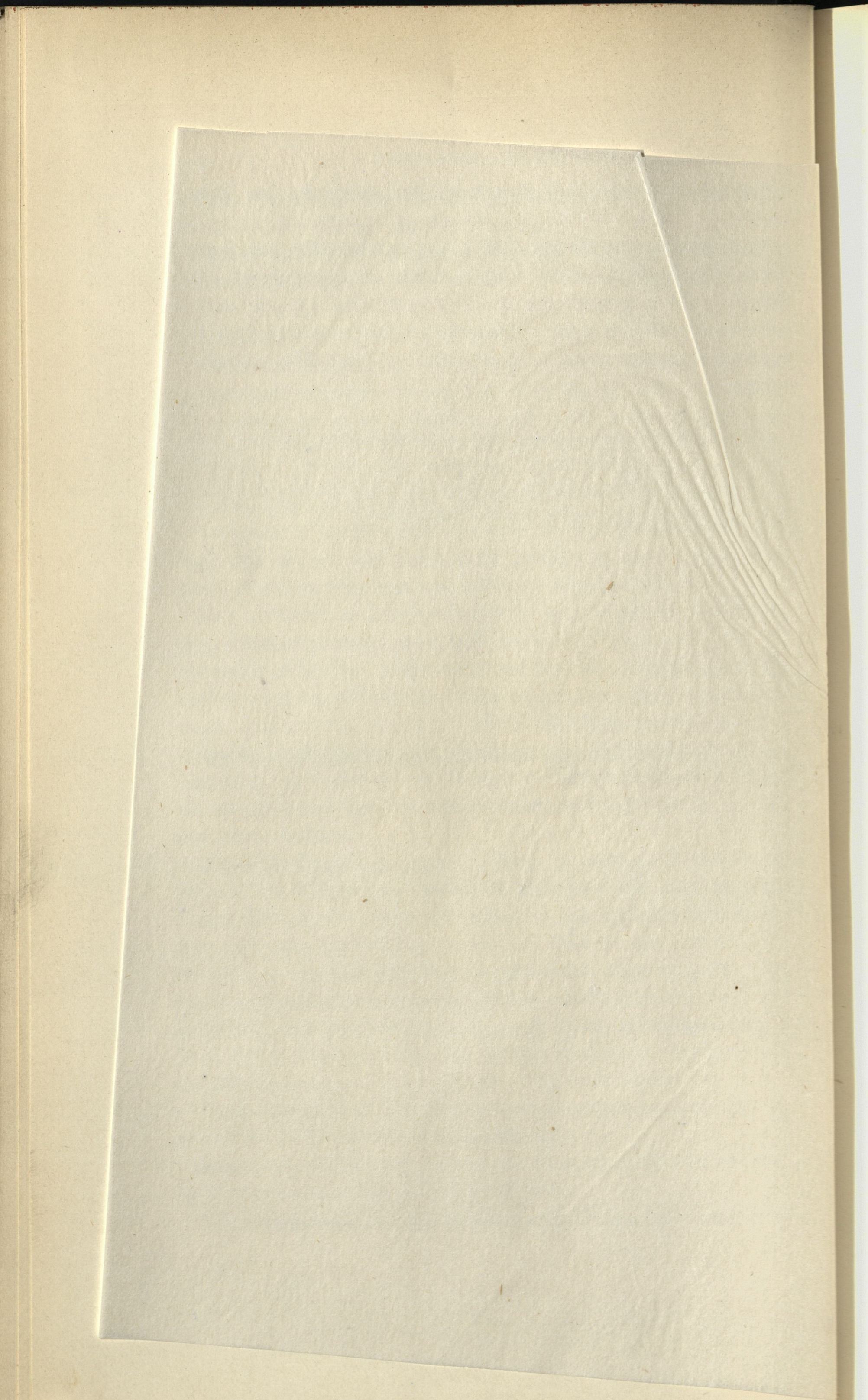
continuons l'œuvre des Foucault, des Bertsch, des Moitessier.

Nous nous consacrerons ainsi à une œuvre utile, car, pour notre modeste part, nous contribuerons aux progrès et à la diffusion des Sciences qui utilisent le microscope, ce merveilleux instrument auquel l'humanité doit et devra encore pendant bien des années de grandes et profitables découvertes.

[Nous donnons à titre de procédés de reproductions 3 planches, dont l'une (*Pl. I*) en similigravure, impression monochrome, la seconde (*Pl. II*) en photocollographie, la troisième (*Pl. III*) obtenue par triple sélection photographique et impression trichrome.]

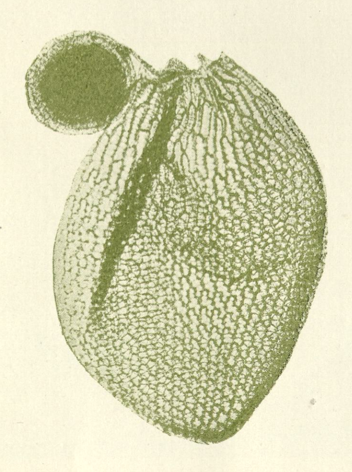
(Extrait des *Annales du Conservatoire des Arts et Métiers,* 3e Sie, t. I).

28112. — Paris, Imp. Gauthier-Villars, 55, Quai des Grands-Augustins.



Anthéridie
de Sphagnum obtusifolium

Impression monochrome en similigravure



Grossissement = 60 diamètres.
Objectif n° 3 Nachet.

Phototype F. Monpillard.

Gravure et Impression
Prieur et Dubois, Puteaux.

Spermatozoïdes de lapin.
Impression monochrome en Photocollographie.



Grossissement = 350 diamètres.
Objectif $\frac{1}{12}$ immersion homogène Nachet.

Phototype F. Monpillard. Photocollographie Longuet.

Cristallisation d'Asparagine.
Lumière polarisée avec lame sensible de gypse.

Sélection triple et impression trichrome.



Grossissement = 55 diamètres.
Objectif n° 3 Nachet.

Phototypes F. Monpillard.

Gravure et Impression
Prieur et Dubois, Puteaux.